

Relatório Final de Estágio
Mestrado Integrado em Medicina Veterinária

**LENTIVÍRUS DE PEQUENOS RUMINANTES:
ARTRITE-ENCEFALITE CAPRINA
E MAEDI-VISNA**

Mário Jorge da Silva Martins

Orientador

Prof. Doutor Paulo Pegado Cortez

Co-Orientador

Dr. António Cortes

Porto 2019

Relatório Final de Estágio
Mestrado Integrado em Medicina Veterinária

**LENTIVÍRUS DE PEQUENOS RUMINANTES:
ARTRITE-ENCEFALITE CAPRINA
E MAEDI-VISNA**

Mário Jorge da Silva Martins

Orientador

Prof. Doutor Paulo Pegado Cortez

Co-Orientador

Dr. António Cortes

Porto 2019

Resumo

Serve o presente relatório para descrição do trabalho realizado durante o estágio curricular do Mestrado Integrado em Medicina Veterinária, com início a 2 de janeiro de 2019 e com a duração de 16 semanas, na Clínica Veterinária de Santo Onofre em Elvas, sob orientação do Dr. António Cortes. Durante este estágio, tive a oportunidade de acompanhar ativamente o Dr. António Cortes e a sua equipa na área de animais de produção no Alentejo, principalmente pequenos ruminantes, bovinos e suínos, nas áreas da clínica e cirurgia, sanidade, medicina preventiva, reprodução, gestão e manejo. Tive também a oportunidade de contactar com uma realidade que contrasta com a região Entre Douro e Minho, onde está implantado o ICBAS, já que a produção extensiva/semiextensiva é predominante.

A clínica também prestava serviços a animais de companhia (maioritariamente cão e gato), o que me permitiu também acompanhar a prática clínica, o internamento e o serviço de anestesia e cirurgia.

O presente relatório descreve o local de estágio, incidindo na casuística e por último debruça-se sobre Lentivírus de Pequenos Ruminantes. Este tema foi escolhido com a ajuda do Prof. Doutor Paulo Cortez e do Dr. António Cortes, depois de ter acompanhado uma exploração intensiva de caprinos leiteiros, onde havia fortes suspeitas desta patologia infecto-contagiosa. Este tema suscitou o meu interesse por se tratar de uma situação relativamente comum mas que é muitas vezes desvalorizada, podendo estar na origem de muitos problemas crónicos, e consequentemente originar perdas económicas em rebanhos por todo o país.

Nesta tese, apresento uma breve revisão bibliográfica acerca do tema e uma pequena discussão sobre a situação desta exploração, avançando com algumas medidas que poderão reduzir a prevalência dos SRLV no efetivo.

Lista de Abreviaturas

AINEs - Anti-inflamatórios não esteroides

CAE - Artrite-encefalite Caprina (Caprine Arthritis and Encephalitis)

CAEV - Vírus da Artrite-encefalite Caprina (Caprine Arthritis and Encephalitis Viruses)

DNA - Ácido Desoxirribonucleico (Deoxyribonucleic acid)

DAE - Deslocamento de abomaso à esquerda

ELISA -Ensaio de Imunoabsorção Enzimática (Enzyme-Linked Immunosorbent *Assay*)

MV - Maedi Visna

MVV - Vírus da Maedi Visna (Maedi-Visna Viruses)

OIE - Organização Mundial de Saúde Animal

PR - Pequenos ruminantes

PCR - Reação em Cadeia da Polimerase (Polymerase chain reaction)

RT-PCR - Reação em Cadeia da Polimerase em Tempo Real (Real time- Polymerase chain reaction)

RNA - Ácido Ribonucleico (Ribonucleic acid)

SRLV - Lentivírus de Pequenos Ruminantes (Small Ruminant Lentiviruses)

Agradecimentos

Ao meu orientador e professor Dr. Paulo Cortez, por todo o apoio, orientação e sugestões durante o desenvolvimento do presente trabalho.

Ao meu co-orientador Dr. António Cortes pela oportunidade, pelos conhecimentos partilhados, pela paciência, profissionalismo, competência e amizade. Pelo que me fez crescer a nível profissional e pessoal.

A toda a equipa da Clínica Veterinária de Santo Onofre: Dra. Cláudia Cortes, Dra. Sofia Peixoto e Enfermeira Ana Gonçalves, por toda a ajuda, conhecimentos transmitidos e disponibilidade.

Aos produtores por me receberem nas suas explorações e contribuírem para a minha formação.

Aos meus pais, por todo o apoio incondicional, por estarem sempre lá, pela paciência, pela amizade e o esforço que me trouxe até aqui.

Aos meus irmãos, por continuarmos a ter 12 anos quando estamos juntos.

Aos meus amigos, pelo companheirismo e momentos passados.

À Rita por todo o apoio, amizade, noites de estudo e por acreditar mais do que eu.

Muito Obrigado

Índice geral

Resumo	iii
Agradecimentos	iv
Lista de abreviaturas	v
Índice geral	vi
Índice de gráficos	vii
Índice de tabelas	vii
1 - Trabalho desenvolvido	1
1.1 - Casuística	1
2 - Revisão bibliográfica	5
2.1 - Transmissão	6
2.2 - Sinais clínicos	7
2.3 - Lesões pós-morte	9
2.4 - Diagnóstico	10
2.5 - Tratamento e controlo	12
3 - Caso em estudo	15
4 - Discussão	16
5 - Bibliografia	19

Índice de gráficos

Gráfico i Casuística de acordo com a espécie	2
Gráfico ii Casuística de acordo com o tipo de procedimentos	2
Gráfico iii Casuística por espécie e área	2
Gráfico iv Prevalência de SRLV (MVV e CAEV) (exame laboratorial ELISA)	16

Índice de tabelas

Tabela i Casuística do período de estágio	3
---	---

1 - Trabalho desenvolvido

O meu estágio curricular decorreu na Clínica Veterinária de Santo Onofre, sendo a sua área de atuação Elvas e os concelhos próximos, incluindo municípios espanhóis vizinhos.

As explorações pecuárias acompanhadas eram na sua maioria extensivas/semiextensivas, de produção de carne, futuros reprodutores e, em menor expressão, explorações intensivas de produção de leite. A maioria das explorações de bovinos eram de aptidão carne em regime extensivo ou semiextensivo, onde as vacas eram cruzadas e os machos eram de raça pura (predominantemente Aberdeen-Angus, Limousine, Charolês, Alentejano, Mertolengo, Simental e Blonde d'Aquitaine). Noutras explorações, as vacadas eram de linha pura, para a venda de reprodutores Aberdeen-Angus e Limousine. Quatro das explorações de bovinos visitadas eram de aptidão leiteira, com animais de raça Holstein-Frísia e Parda Suíça.

As explorações de caprinos e ovinos visitadas eram de aptidão carne, sendo que algumas de menor dimensão também produziam leite. Todas estas explorações funcionavam em regime extensivo ou semiextensivo, onde a maioria das fêmeas eram cruzadas de raças nacionais e os machos de raças puras autóctones ou exóticas. Foram também acompanhadas explorações de caprinos de aptidão leiteira em regime intensivo e semiextensivo, com animais cruzados e da raça Murciana.

As explorações de suínos acompanhadas eram de animais da raça Alentejana, em regime semiextensivo e o acabamento em regime extensivo.

1.1 - Casuística

Ao longo do estágio acompanhei visitas de medicina preventiva, programas de sanidade oficiais, clínica e cirurgia, medicina reprodutiva, gestão e manejo de animais de produção. O gráfico i apresenta as percentagens relativas de cada espécie, relativamente à casuística observada na área de animais de produção (predominantemente bovinos). No gráfico ii está representada a casuística de procedimentos realizados, sendo evidente que a área de medicina preventiva (que inclui programas de vacinação, desparasitação e programas de sanidade oficiais) foi a dominante. O gráfico iii mostra a casuística de modo mais detalhado, relativamente a cada espécie. A tabela i discrimina os procedimentos médico-veterinários que acompanhava.

A clínica onde estagiei também prestava serviços a animais de companhia, onde acompanhava a prática clínica e serviço de cirurgia, tendo participado aí como ajudante de cirurgião (33 cirurgias).

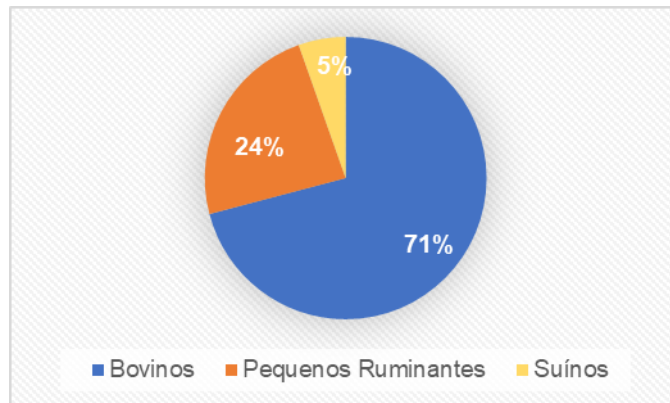


Gráfico i Casuística de acordo com a espécie (n= 7673)

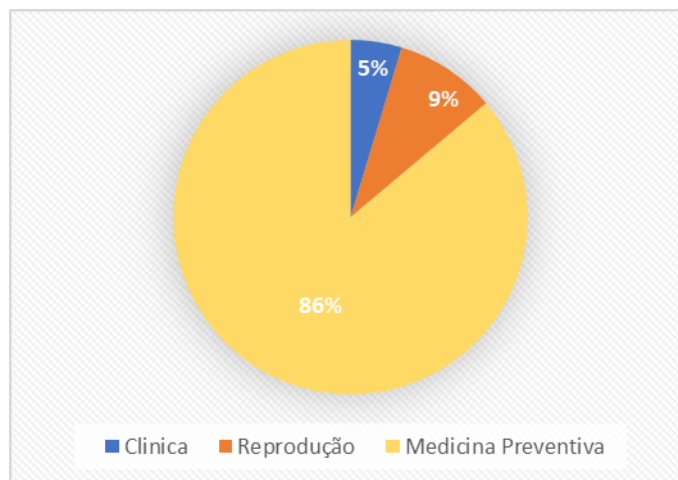


Gráfico ii Casuística de acordo com o tipo de procedimentos (n=7673)

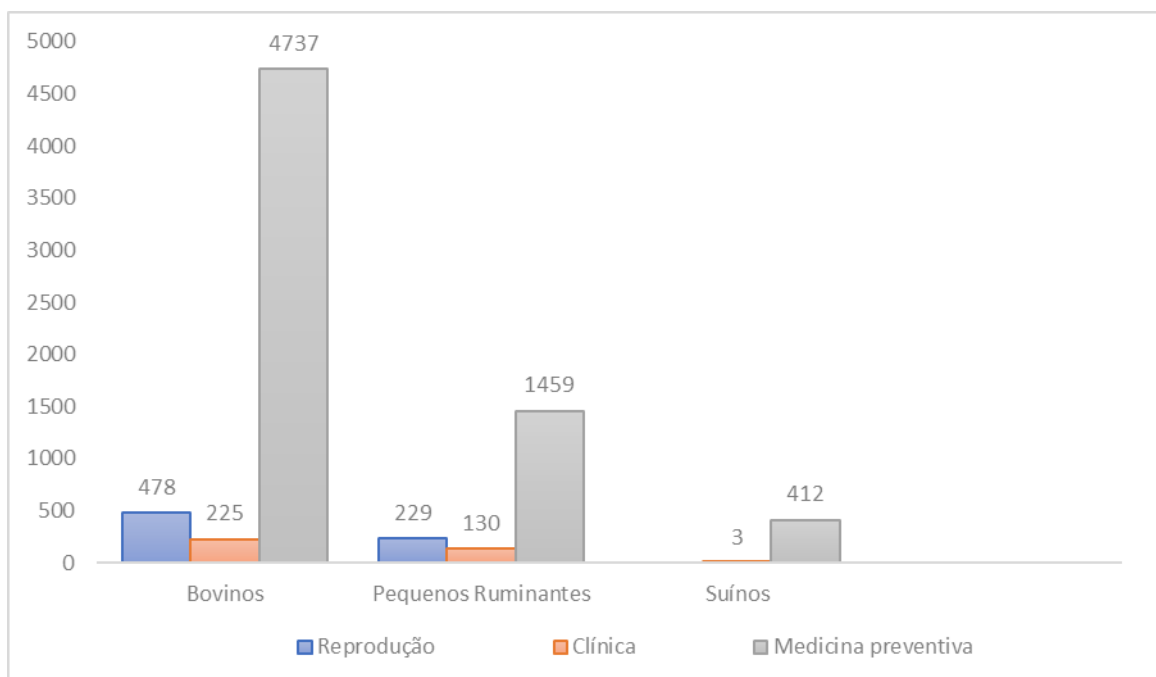


Gráfico iii Casuística por espécie e área (n=7673)

Tabela i Casuística do período de estágio

Espécie	Área	Atividade	Nº de procedimentos
Bovinos	Reprodução	Programas de sincronização de cio	67
		Inseminação artificial	222
		Exames andrológicos	16
		Diagnóstico de gestação (palpação)	173
	Clínica	Descorna (adultos)	140
		Descorna (vitelos)	2
		Parto distócico: manobras obstétricas	5
		Parto distócico: fetotomia	6
		Parto distócico: cesariana	2
		Mamite	3
		Eutanásia	5
		DAE-cirurgia	2
		Diarreia (adultos)	1
		Diarreia (vitelos)	26
		Prolapso uterino	4
		Metrite	3
		Multifatorial (febre, timpanismo, dor, anorexia)	4
		Fratura do corno	1
		Necrópsia	5
		Vaca caída	4
		Fraturas	1
		Pneumonia	2
		Miíases	1
		Enucleação olho – cirurgia	1
		Claudicação	3
		Reticulo peritonite traumática	2
		Indigestão	2
	Medicina Preventiva	Vacinação	2098
		Desparasitação	426
		Sanidade oficial (recolha de sangue e/ou tuberculinização, vacinação e desparasitação)	1956
		Tuberculina (pré-movimentação)	256
		Apoio técnico exploração	1

Ovinos e Caprinos	Reprodução	Programas de sincronização de cio	74
		Exames andrológicos	2
		Diagnostico de gestação (Ecografia)	153
	Clínica	Diarreia (adultos)	2
		Diarreia (jovens)	50
		Abcesso	2
		Necrópsia	4
		Eutanásia	1
		Mamite	4
		Toxémia de gestação	2
		Ectima contagioso	30
		Metrite	1
		Miíases	1
		Sarna	30
		Claudicação	1
		Pneumonia	2
	Medicina Preventiva	Apoio técnico à exploração	1
		Vacinação	546
		Sanidade oficial (recolha de sangue, vacinação e desparasitação)	747
		Recolha de sangue	165
Suínos	Clínica	Abcesso	2
		Ferida/trauma	1
	Medicina Preventiva	Vacinação	206
		Desparasitação	206

2 - Revisão bibliográfica

A Maedi-Visna (MV) e a Artrite-Encefalite Caprina (CAE) são ambas doenças víricas crónicas, multissistémicas, persistentes e de progressão lenta. Estas doenças são causadas por um grupo de Lentivírus chamados de Lentivírus de Pequenos Ruminantes (SRLV). Pertencem ao género *Lentivirus* da família *Retroviridae* e incluem o Vírus da Maedi Visna (MVV) e o Vírus da Artrite-encefalite Caprina (CAEV) ¹. Ambos os vírus afetam os leucócitos, tendo como alvo principal as linhagens dos monócitos e macrófagos, provocando assim infeções crónicas permanentes e degenerativas. Estes vírus afetam ovinos e caprinos, limitando a produtividade dos rebanhos e as trocas comerciais internacionais. O MVV ocorre principalmente em ovinos, enquanto o CAEV é mais frequente em caprinos².

Os SRLV são agentes patogénicos intracelulares obrigatórios que necessitam dos mecanismos celulares do hospedeiro para completar o seu ciclo. Esta relação é complexa e desencadeia uma resposta imunitária mista no hospedeiro (inata e adquirida). Por este motivo, o curso da doença não depende apenas da estirpe do vírus, mas também do hospedeiro enquanto indivíduo²⁵.

Após ocorrer contacto com o vírus, a transcrição e a expressão génica do ácido desoxirribonucleico (DNA) proviral estão suprimidas até que os monócitos afetados sofram maturação, originando os macrófagos. Estes irão iniciar a replicação viral quando atingirem os órgãos alvo, sendo ativada a cascata inflamatória. Apesar da resposta inflamatória ser exuberante, o sistema imunitário não é capaz de destruir o vírus, tornando-se portador para o resto da vida ^{2,25}.

Apesar da sua forma mais comum ser subclínica, alguns animais desenvolvem outras formas da doença, que evolui de modo progressivo e incurável. As ovelhas podem desenvolver um quadro respiratório na forma de dispneia (Maedi) ou sinais neurológicos (Visna), sendo ambos os casos potencialmente fatais. Os caprinos adultos normalmente desenvolvem artrite crónica progressiva, enquanto que em cabritos é mais comum a ocorrência de encefalomielite. Ambas as espécies podem vir a desenvolver mamites, tendo sido descritas outras síndromes da doença, embora mais raras ^{2,25}.

As perdas económicas devido a estas síndromes podem ser substanciais. Estas podem ocorrer devido a restrições na comercialização e exportação de animais vivos (principalmente reprodutores), obtenção de carcaças de menor qualidade, diminuição dos índices reprodutivos e

diminuição da qualidade e quantidade da produção leiteira e queijeira (mesmo em infeções subclínicas)^{2,3}.

Diferentes estirpes de SRLV foram identificadas nas últimas décadas, tendo sido classificadas e agrupadas em cinco genótipos diferentes (de A a E), de acordo com as suas características biológicas e patológicas. Os genótipos A e B contêm as formas clássicas de MV e CAE respetivamente, amplamente distribuídos (com a exceção da Austrália, Nova Zelândia e Islândia); o genótipo C é encontrado na Noruega; o D em Espanha e Suíça; e o genótipo E em Itália^{2,4}. Estudos realizados em rebanhos portugueses, baseados em pesquisas serológicas, detetaram uma prevalência de quase 82% do genótipo A (MVV clássico)^{5,6}.

A CAE e a MV estão presentes na lista de doenças de declaração obrigatória a nível internacional (Organização Mundial de Saúde Animal - OIE), mas não contam da lista comunitária da União Europeia nem nacional. Não há evidência que o SRLV tenha potencial zoonótico⁷.

2.1 - Transmissão

A transmissão de SRLV pode ocorrer de forma horizontal e/ou vertical. A transmissão horizontal ocorre por contacto direto entre animais por intermédio de aerossóis, secreções respiratórias e acasalamento. Há fortes indícios de que a transmissão respiratória (através de secreções e aerossóis) ocorre por contacto direto próximo, uma vez que parece não ocorrer transmissão do SRLV a alguns metros de distância. A co-infeção com o vírus da adenomatose pulmonar ovina potencia a transmissão pela via respiratória². O SRLV pode ser encontrado no sêmen e no trato reprodutivo de ovelhas e cabras, mas aparentemente não afetam os espermatozoides, nem os oócitos. A transmissão sexual está descrita como uma possibilidade teórica, mas não é comum⁸, sendo necessários mais estudos no sentido de compreender esta possível via de transmissão. A transmissão iatrogénica, através de agulhas ou outros objetos que estiveram em contacto com sangue e tecidos, também parece ser uma possibilidade. Os fomites parecem ter um papel importante, mas o SRLV não sobrevive mais do que alguns dias no ambiente, especialmente em ambientes secos e quentes⁹.

Pensa-se que a ingestão de colostro e leite infetados (via lactogénea) seja o principal meio de transmissão vertical da doença. Esta ideia é apoiada pelo sucesso na prevenção da doença, através da separação dos borregos e cabritos das suas mães ao nascimento⁹. A transmissão vertical *in utero* também já foi demonstrada, mas o seu mecanismo não foi completamente compreendido^{8,10}. Outros autores defendem que a placenta epiteliocorial dos ruminantes protege

efetivamente contra a transmissão intrauterina e normalmente fêmeas infetadas têm cabritos ou cordeiros saudáveis ³.

Apesar da CAE ocorrer preferencialmente em caprinos e a MV em ovinos, a especificidade de hospedeiros dos diferentes genótipos não é estrita. A transmissão do vírus em rebanhos mistos ocorre de cabras para ovelhas e vice-versa, podendo ajustar-se e persistir numa nova espécie. Alguns pequenos ruminantes (PR) selvagens podem, inclusive, ser infetados por SRLV de animais domésticos, como o caso do muflão (*Ovis gmelini*), que em condições experimentais foi infetado ². O CAEV já causou doença em várias *Oreamnos americanus* (cabras selvagens das Montanhas Rochosas, no Canadá e Estados Unidos), mantidas em cativeiro e alimentadas com leite de cabra doméstica, enquanto juvenis. Uma das *Oreamnos americanus* mantida com esse grupo, também mostrou sinais da doença sem consumir o mesmo leite ².

Em condições naturais, cabras selvagens em contacto com rebanhos domésticos, foram infetadas com o genótipo B ².

Os resultados preliminares sugerem que os vírus detetados em PR selvagens possam ser diferentes do CAEV e MVV, devido a mutações adaptativas do vírus ². Pensa-se que não ocorre doença em outras espécies por SRLV. A infeção experimental por CAEV em bezerros recém-nascidos pode ocorrer, mas a infeção é assintomática e o vírus desaparece após quatro meses ².

Em qualquer animal infetado, o SRLV é incorporado no DNA dos seus leucócitos e o animal torna-se portador, para a vida toda. Proteínas virais e Ácido Ribonucleico (RNA) genómico são sintetizados a partir do DNA integrado, usando o sistema enzimático da célula do hospedeiro. No hemograma, a contagem de leucócitos permanecerá dentro dos limites de referência, uma vez que o vírus não destrói estas células¹¹. A sua transmissão ocorre tanto em animais sintomáticos como assintomáticos ².

2.2 - Sinais clínicos

A evolução da doença causada por SRLV é muito variável, dependendo do genótipo e do hospedeiro e podendo ter uma evolução lenta de meses ou anos até surgirem sinais clínicos. A doença clínica pode apresentar-se de diferentes formas, aqui agrupadas de acordo com o sistema orgânico mais afetado: forma respiratória, neurológica, articular e mamária ¹².

Forma respiratória:

Em ovinos infetados por MVV a forma mais comum da doença é a Maedi, caracterizada por dispneia severa progressiva. Os sinais menos frequentes incluem febre, exsudado bronquial e prostração. A progressão da doença pode culminar em morte do animal por pneumonia bacteriana secundária e/ou anóxia. O início dos sinais clínicos ocorre entre os três e os quatro anos ^{2, 12}.

Os caprinos com CAEV também podem apresentar dispneia e pneumonia intersticial crónica ².

Forma neurológica:

Os sinais clínicos de Visna em ovinos normalmente ocorrem a partir dos dois anos de idade, mas estão descritos casos em borregos com quatro a seis meses. A evolução da doença pode prolongar-se por um ano. As alterações neurológicas começam de forma ligeira, inicialmente com fraqueza dos membros posteriores, *head tilt* (inclinação da cabeça), tremor dos lábios e perda de condição corporal. A progressão da doença origina incoordenação, ataxia, paresia, paraplegia e tremores musculares, podendo culminar com a morte do animal, por debilidade ^{2, 12}.

As principais manifestações do CAEV são a poliartrite e a encefalomielite. A encefalomielite ocorre principalmente em cabritos de dois a seis meses de idade. Inicialmente, manifesta-se por claudicação, ataxia, défices proprioceptivos dos membros posteriores, hipertonia e hiperreflexia. Estes quadros evoluem para paraparesia, tetraparesia e parálise. Outros sinais clínicos incluem *head tilt*, *circling* (marcha circular), cegueira, disfagia, rigidez do pescoço, nistagmo e aumento da temperatura. Os cabritos acabam por morrer devido à exposição aos fatores atmosféricos e ambientais (hipotermia, desidratação, hipoglicémia, etc) e/ou infeções secundárias ^{2, 13}.

Forma articular:

Quando a doença se manifesta através de poliartrite, afeta maioritariamente caprinos adultos, mas ocasionalmente cabritos de seis meses e mesmo ovinos, onde o principal responsável é o CAEV. Começa com claudicação e distensão da cápsula articular, progredindo de forma lenta e tornando-se numa situação crónica e dolorosa, com poliartrite, sinovite e bursite. Consequentemente, os animais apresentam relutância ao movimento, decúbito

prolongado, inapetência e diminuição da produção leiteira. Todas as articulações dos membros são suscetíveis, assim como a articulação atlanto-occipital, mas as articulações do carpo são as mais afetadas e por isso os animais tentam deslocar-se com os membros anteriores em flexão ^{2, 13}.

O MVV também pode causar artrite em ovinos, mas é uma situação pouco comum ^{2, 13}.

Forma mamária:

As infecções por CAEV e MVV também podem causar mamite, tanto em cabras como ovelhas. É uma situação crónica em que a glândula mamária se torna tumefacta, dura, firme, havendo diminuição da produção de leite da metade afetada ¹³.

2.3 - Lesões pós-morte

Na necrópsia dos animais afetados, é possível observar lesões que, associadas à história clínica, podem ajudar a estabelecer o diagnóstico¹¹. As lesões mais características de cada apresentação da doença podem ser agrupadas de acordo com o sistema orgânico mais afetado.

Forma respiratória:

Em animais com Maedi os pulmões podem não colapsar quando se abre a cavidade torácica, podendo estar firmes, pesados e aumentados. Podem apresentar-se com enfisema e/ou com áreas de consolidação, de coloração cinzenta ou acastanhada. É possível a existência de nódulos circundantes às vias respiratórias inferiores e pequenos vasos sanguíneos. Os linfonodos mediastínicos e traqueobronquiais, dependendo da fase da doença, podem estar edemaciados e aumentados. Pode ocorrer miocardite com agregados linfóides, alveolite crónica severa e pneumonia intersticial linfóide. Em infecções pelo CAEV, podem surgir lesões semelhantes às observadas na Maedi. Algumas lesões podem ser mascaradas por infecções bacterianas secundárias ^{2, 11, 14}.

Forma neurológica:

Animais com Visna ou encefalite têm normalmente as lesões circunscritas ao cérebro e medula espinhal. A medula espinhal pode apresentar-se tumefacta e as meninges podem ter um aspeto turvo. A substância branca do cérebro e/ou da medula espinhal pode apresentar lesões focais e assimétricas de aspeto rosa acastanhado. Os animais podem ainda apresentar encefalomielite não supurativa (com infiltrado inflamatório) ^{2, 11, 13}.

Forma articular:

Na forma articular é possível observar a cápsula das articulações espessada, com proliferação das vilosidades sinoviais. Em alguns casos, pode ocorrer calcificação da cápsula articular, da inserção dos tendões e da bolsa sinovial. Em quadros mais severos, pode ocorrer degeneração da articulação, com rutura de ligamentos e formações ósseas (osteófitos) na zona da articulação ^{2, 13}.

Forma mamária:

Em animais com mamite provocada por CAE ou MV o úbere está tumefacto e firme, apresentando mamite intersticial difusa, fibrose e, em alguns casos, abscessos. Pode também ser observada linfadenomegália dos linfonodos associados à drenagem da glândula mamária (supramamários, inguinais profundos, ilíacos externos e pré-femorais) ^{2, 15}.

2.4 - Diagnóstico

O diagnóstico de infeções por SRLV é baseado nos sinais clínicos, lesões, história clínica do rebanho e exames laboratoriais. Contudo, muitos dos animais afetados são assintomáticos e os sinais clínicos podem demorar meses ou anos a aparecer. Além disso, não há um exame laboratorial *gold standard* para o diagnóstico destas infeções ¹⁴.

Os principais exames de diagnóstico são a imunodifusão em agar gel e Ensaio de Imunoabsorção Enzimática (ELISA) (ambos serológicos), Reação em Cadeia da Polimerase (PCR) e Reação em Cadeia da Polimerase em Tempo Real (RT-PCR), isolamento viral por cultura e histopatologia ¹⁴. Como todos os testes disponíveis têm limitações, a escolha do meio de diagnóstico não é unânime. Alguns autores recomendam realizar dois testes distintos para confirmação, enquanto outros sugerem a combinação de um meio de diagnóstico serológico com os sinais clínicos e histopatologia ². Segundo a OIE, a abordagem mais prática e viável para

confirmar o diagnóstico da CAE ou MV é a combinação de um teste serológico e avaliação clínica, tendo sempre presente a possibilidade de ocorrência de falsos negativos ¹⁵.

A histopatologia, através de biópsia ou amostra de necrópsia, pode ajudar na confirmação do diagnóstico de animais com sintomatologia ².

Serologia – ELISA:

A infecção por SLRV induz a produção de anticorpos pelo hospedeiro e a maioria dos pequenos ruminantes infetados têm em circulação anticorpos suficientes para que possam ser detetados por testes serológicos. O mais utilizado e recomendado é o ELISA, que é um teste quantitativo, económico e que, em alguns laboratórios, pode ser automatizado, sendo útil para um grande número de amostras (permite o rastreamento de todo o rebanho). A sensibilidade e especificidade dependem essencialmente da estirpe da amostra e da amostra *standard* com que é comparada. É importante que o teste coincida com a variante que circula na região. As amostras utilizadas podem ser o sangue, leite ou colostro ¹⁵. O tempo necessário para ocorrer seroconversão, após a infecção, é imprevisível e variável, mas normalmente ocorre em meses. Os títulos de anticorpos em circulação podem flutuar e alguns animais podem ser seronegativos intermitentemente. Devido a estas limitações, os testes serológicos não são tão eficazes no diagnóstico clínico de um animal individual mas são uma mais valia no rastreio de rebanhos ². Utilizar ELISA como única ferramenta de diagnóstico não é recomendado, pois casos de infeções recentes vão passar despercebidos. Este deve ser complementado com PCR para identificar esses animais ¹⁴.

Biologia molecular – PCR:

A deteção de anticorpos é suficiente para a identificação de animais portadores do vírus, mas alguns animais infetados recentemente podem ser seronegativos devido à seroconversão tardia. Uma das estratégias para contornar esta situação passa pela identificação do vírus no animal, através de testes de reconhecimento de ácidos nucleicos, como o PCR e RT-PCR. Através destes testes é possível detetar, quantificar e identificar estirpes de SRLV mesmo antes do animal fazer a seroconversão ^{2, 14, 15}.

As limitações do diagnóstico por PCR incluem a variabilidade genética dos diferentes SRLV (teste com *primers* limitados, podendo algumas estirpes não estarem contempladas) e a baixa carga viral. Por serem vírus que se associam a células, os SRLV são normalmente

encontrados em leucócitos no sangue, leite, colostro e líquido sinovial, e raramente encontrados livres no organismo. A carga viral é variável ao longo do tempo. O conhecimento epidemiológico da região de origem dos animais é também importante para seleccionar os *primers* mais indicados e assim diminuir os falsos negativos ¹⁵.

2.5 - Tratamento e Controlo

Atualmente não há tratamento eficaz contra MV e CAE. A capacidade destes vírus incorporarem o genoma do hospedeiro torna-os persistentemente infetados e a sua eliminação virtualmente impossível. Assim sendo, a vacinação poderia ser utilizada na prevenção da infeção. Até ao momento, nenhuma vacina desenvolvida mostrou ser eficaz, devido à alta taxa de mutação viral. Nas tentativas realizadas, ocorreu ocasionalmente aumento da virémia e aumento da severidade da doença ²⁵.

Um tratamento de suporte, camas mais confortáveis, aparagem corretiva dos cascos, administração de anti-inflamatórios não esteroides (AINEs) e controlo de infeções bacterianas secundárias podem melhorar o bem-estar dos animais com sintomatologia ^{2,25}.

Por ser uma doença sem cura, a melhor estratégia será prevenir e controlar a disseminação do vírus. Em Portugal, estas medidas poderão ser ainda mais relevantes no caso de explorações no norte e centro do país, uma vez que tendem a ser pequenas e geograficamente próximas, permitindo assim uma disseminação mais fácil deste vírus. Por outro lado, por serem explorações de menor dimensão, também se torna mais difícil a aplicação de medidas corretivas ³.

Se um rebanho nunca entrou em contacto com o SRLV (ou seja todos os animais foram testados e o resultado é negativo em duas amostragens com um intervalo de seis meses ¹⁷), a implementação de medidas de biossegurança é essencial para impedir a entrada desse vírus:

- reduzir a possibilidade de contacto com outros rebanhos ²;
- evitar a compra de novos animais (optar por inseminação artificial e/ou transferência de embriões) ⁸;
- se for necessário comprar animais, devem ser de rebanhos certificados como livres de SRLV ²;
- fazer quarentena e testagem antes de introduzir os novos animais no rebanho e repetir o teste seis a doze meses depois ²;

- e não colocar rebanhos livres de SRLV em pastos utilizados por animais de estatuto sanitário desconhecido, há menos de sete dias ¹⁷.

Quando um rebanho está infetado com CAE ou MV, as medidas sanitárias e de manejo são essenciais para tentar controlar a infeção. As medidas a aplicar vão variar de exploração para exploração, dependendo da aptidão, do tamanho do rebanho e das condições da exploração (pavilhões, parques, cercas, cabriteiro, existência do pasteurizador, etc.) ¹⁸. Uma das estratégias passa por testar e refugar animais positivos e a sua descendência ¹⁹, parecendo ser uma estratégia adequada quando a prevalência da infeção é baixa e há poucos animais positivos ². Quando a prevalência da doença é muito alta e a maioria dos animais têm sinais clínicos, uma das opções é o refugo de todo o rebanho, vazio sanitário e compra de novos animais comprovadamente saudáveis ¹⁶.

Outra estratégia consiste em separar definitivamente os cabritos ou borregos à nascença e alimentá-los com colostro pasteurizado e leite em pó ou leite de animais saudáveis, evitando assim a transmissão do vírus pela via lactogénea. Esta estratégia é eficaz, mas pode demorar vários anos até se erradicar o vírus do rebanho ¹⁶.

Para evitar o refugo de muitos animais ao mesmo tempo, o rebanho deve ser testado e ser segregado em dois grupos: os animais saudáveis e os animais infetados com SRLV. Estes grupos devem ser frequentemente testados e não devem voltar a contactar entre si. Em situações em que é necessário partilharem o mesmo espaço físico (como a sala de ordenha, a manga, etc.) o grupo saudável deve ser sempre o primeiro a usar as instalações, para evitar contaminações. Os espaços em comum devem ser higienizados com detergentes enzimáticos (uma vez que o Lentivírus é revestido por uma membrana hidrofóbica), após serem utilizados pelo grupo infetado ²⁰. Ao longo do tempo, a escolha de animais para refugo deve ser feita a partir do grupo dos animais infetados ².

Devido à descoberta de genes que podem aumentar a suscetibilidade dos animais ao SRLV, poderá ser possível a criação de rebanhos resistentes à doença através de programas de reprodução seletiva, consistindo na seleção de carneiros ou bodes geneticamente resistentes à doença. A sua descendência deverá ficar no rebanho até aos sete meses de idade, selecionando-se os seronegativos a partir desses animais. Contudo, a heterogeneidade, alta taxa de mutação e a possibilidade de resistência ao vírus ser uma característica poligénica, poderão limitar o seu sucesso ¹⁸.

Um exemplo de um programa de erradicação do CAEV foi aplicado no Japão com a duração de cinco anos. Numa exploração intensiva de caprinos, sem recorrer ao refugo do rebanho e sem comprar novos animais. O programa consistia em:

- Remoção dos cabritos ao nascimento;
- Separação de cada geração (separação dos animais em quatro rebanhos de A a D: o rebanho original era o A, a sua descendência era o B, a descendência de B era o C e a descendência do C era o D);
- Testes periódicos e abate de caprinos positivos (exceto o grupo A).

Passados três anos os animais do grupo A foram refugados e os reprodutores passaram a ser o grupo B. Deste ponto até ao final do programa, não voltaram a ser detetados animais seropositivos, tendo sido possível erradicar o CAEV neste efetivo, e registado um aumento na produção leiteira ²⁰.

Tendo em conta o tipo de exploração, as suas condições e o seu objetivo, estas medidas podem e devem ser conjugadas para melhores resultados ².

3 - Caso em estudo

A exploração onde realizei o meu estudo era do tipo intensivo, com caprinos leiteiros de linha pura da raça Murciana, com um efetivo de cento e sessenta e cinco animais adultos, localizada em Alegrete, Portalegre. As cabras eram alojadas em parques de acordo com os seus níveis de produção leiteira. Os parques dividiam-se em cabras secas, de alta produção, de média produção, de baixa produção, em pré parto e recia. As cabras mudavam de parque ao longo do seu ciclo produtivo. Os cabritos geralmente eram retirados das mães depois de mamarem o colostro e passavam para um cabriteiro com alimentador automático. O destino dos cabritos passava por: animais de reposição, venda de reprodutores e venda para recia e engorda.

A exploração era acompanhada pelo Médico Veterinário regularmente, para controlo reprodutivo (de 41 em 41 dias) e medicina preventiva. O programa profilático da exploração incluía:

- desparasitação anual com albendazol e ivermectina (Dezembro e Julho, respetivamente);
- vacinação contra as clostridioses;
- vacinação contra a agalaxia contagiosa;
- vacinação contra coxiela;
- vacinação contra pasteurella.

O rebanho apresentava um problema crónico respiratório nos animais adultos, que apresentavam dispneia e tosse, principalmente quando os animais estavam em atividade (quando se deslocavam para a ordenha ou para a manga). A par dos problemas respiratórios, ocorriam também mortes de animais no pré e pós-parto, associados a toxémia de gestação. Os casos de artrite eram raros. Nas necrópsias de rotina não foram encontrados achados relevantes.

Os principais diagnósticos diferenciais para os problemas respiratórios eram:

- CAEV;
- Mycoplasma spp;
- Adenomatose pulmonar;
- Parasitismo (larvas pulmonares - Dictyocaulus filaria, Muellerius capillaris e Protostrongylus rufescens);
- Oestrus ovis;
- Mannheimia haemolytica;
- Pasteurella multocida;
- Bibersteinia trehalosi;

- Vírus respiratório sincicial;
- Adenovírus;
- e Parainfluenza tipo3.

Relativamente aos diagnósticos diferenciais para os problemas respiratórios frequentes, a suspeita mais forte era o da CAEV. Por esse motivo foi retirada uma amostra sanguínea a todos os animais adultos do efetivo, para a realização de exames complementares. O sangue foi enviado para o laboratório e o exame complementar escolhido foi o ELISA, para pesquisa de anticorpos contra CAEV e MVV. Os resultados revelaram que, dos cento e sessenta e cinco animais testados, cinquenta e três foram seropositivos para CAEV ou MVV (gráfico iv). Neste teste laboratorial não foi distinguido o tipo de SRLV presente.

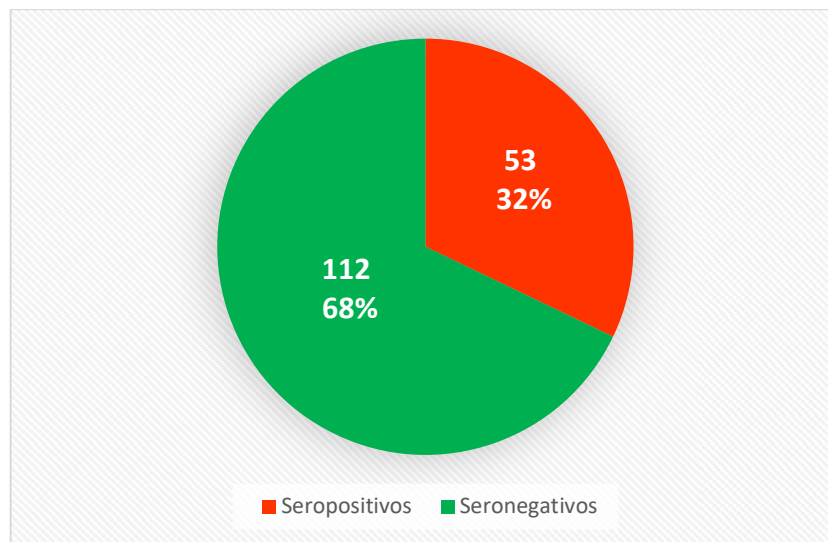


Gráfico iv – Prevalência de SRLV (MVV e CAEV) (exame laboratorial ELISA) (n=165)

Com base nestes resultados, a exploração tomou medidas para tentar reduzir a disseminação dos vírus. Foi implementada de imediato a prática de retirar os cabritos das mães à nascença, alimentá-los com colostro pasteurizado (a exploração já possuía o pasteurizador) e mais tarde com leite de substituição. Devido à duração do estágio, não foi possível avaliar o impacto destas medidas.

4 - Discussão

Apesar de serem medidas comprovadamente eficazes a longo prazo, outras medidas podiam ser implementadas para tentar acelerar a eliminação do vírus da exploração, tais como:

- Repetir o exame complementar de diagnóstico seis meses depois (permitindo detecção de falsos negativos e animais infectados posteriormente ao primeiro exame);

- Separar os animais seropositivos num dos pavilhões, evitando o contacto total com o resto do rebanho. Para facilitar o maneo normal da exploração, podia-se subdividir este grupo de acordo com os seus níveis de produção leiteira: cabras secas, de alta produção, de média produção, de baixa produção e em pré parto (a exploração possuía quatro pequenos pavilhões afastados e isolados uns dos outros, tornando o isolamento dos grupo seropositivo relativamente fácil de aplicar, sem ser necessário grandes mudanças na exploração, nem investimento);
- Refugar todos os animais do grupo seropositivo. Para tentar diminuir o impacto económico, este processo poderia ser prolongado durante anos, começando pelos animais com idade mais avançada, com média de produção leiteira baixa, sem valor genético para a exploração e com outras patologias associadas;
- Durante a ordenha o grupo seropositivo deveria ser o último, assim como na ida à manga. As instalações deveriam ser higienizadas e desinfetadas após serem utilizadas por este grupo (com a separação dos dois grupos, a sala de ordenha passaria a ser o principal ponto crítico de infeção. A higienização seria essencial para prevenir infeções, sendo recomendada a limpeza de toda a matéria orgânica, como secreções respiratórias e saliva, e a utilização de um detergente enzimático);
- Evitar a compra de novos animais. No entanto, se fosse necessário, os animais deveriam provir de rebanhos certificados como livres de SRLV. Após a sua aquisição, deveria fazer-se quarentena e testagem antes de serem introduzidos no rebanho. A testagem deveria ser repetida passados seis meses (desta forma evitar-se-ia a reintrodução do vírus no rebanho, sendo uma prática que deveria permanecer na exploração mesmo depois da eventual erradicação do vírus);
- O grupo seronegativo e os animais de reposição deveriam ser testados para SRLV pelo menos uma vez por ano (desta forma aumentar-se-ia a possibilidade de detetar animais assintomáticos com seroconversão tardia ou novas infeções);
- Aplicação de práticas de biossegurança, cuidados médico-veterinários e higiene e segurança dos operadores (de modo a evitar fomites, infeções iatrogénicas e a introdução do vírus a partir de explorações vizinhas)^{16,17,18,20}

Apesar da escolha do meio complementar de diagnóstico por ELISA parecer ser adequada, proceder ao isolamento do vírus que circula na exploração e à sua caracterização genotípica, poderia constituir uma mais-valia, para ajudar na escolha de meios complementares

de diagnóstico mais específicos e para diminuir a possibilidade de ocorrência de falsos positivos ou negativos.

Este conjunto de medidas poderia implicar custos económicos elevados, sem se obter retorno económico a curto prazo. Por este motivo seria essencial uma boa comunicação entre Médico Veterinário e produtor, no sentido de estabelecer metas e objetivos realistas e praticáveis.

Os rebanhos infetados com MVV e CAEV são relativamente comuns em Portugal. Embora durante a realização desta tese tenha sido difícil a obtenção de dados oficiais relativamente à prevalência real de CAEV e MVV, havendo publicações com prevalências desde 36% até 82%. Este tipo de infeções está associado à diminuição de produtividade e a entraves à comercialização de animais vivos, representando por este motivo perdas económicas consideráveis. Os principais fatores de risco passam pela compra de animais, o contacto entre rebanhos e os animais assintomáticos. Estes fatores dificultam a eliminação destes vírus. A complexidade da erradicação dos SRLV está também associada à dificuldade de estabelecer um diagnóstico imediato e preciso, à variabilidade de génotipos, à infeção entre espécies e à dificuldade de implementação de um plano de erradicação. Para se desenvolver e aplicar um plano de erradicação, é necessário um grande comprometimento do produtor, pois é um plano que pode durar vários anos, tem custos associados, mão de obra e a exploração tem de ter capacidade estrutural para implementar as soluções. Apesar de ser trabalhoso e exigente, a aplicação de programas de erradicação a longo prazo permitirá um retorno económico considerável, principalmente na produção de leite e venda de reprodutores. A criação de programas de erradicação adaptados ao nosso País e com implementação facultativa parece ser uma solução para criar rebanhos livres de SRLV.

Uma vez que a principal solução passa pela prevenção, o desenvolvimento de vacinas parece ser uma solução promissora, mas devido às características do vírus e à alta taxa de mutação viral ainda não está disponível. São necessários mais estudos para entender as particularidades destes vírus em Portugal e avançar com soluções práticas e executáveis.

Uma melhor compreensão das sequências do genoma envolvidas, da patologia e do seu polimorfismo serão essenciais para o desenvolvimento de programas de cruzamento seletivo, permitindo a obtenção de animais naturalmente resistentes ao vírus. Contudo, uma seleção focada apenas neste objetivo poderá ser potencialmente negativa em termos de produtividade, pois podem ser perdidas características desejáveis (produção de leite, índice de conversão, etc.).

Como a variabilidade genética e antigénica destes vírus continua a representar um desafio, o futuro passará pela deteção de novos alvos de pesquisa, no sentido de gerar novas oportunidades de desenvolvimento de terapias antivíricas.

5 - Bibliografia

1. Grego, E., Bertolotti, L., Quasso, A., Profiti, M., Lacerenza, D., Muz, D., Rosati, S. (2007) "Genetic characterization of small ruminant lentivirus in Italian mixed flocks: evidence for a novel genotype circulating in a local goat population" **Journal of General Virology** 88,3423-3427
2. Spickler, A. (2015) "Small Ruminant Lentiviruses "The center for food security & public health [Online]. Available: www.cfsph.iastate.edu/diseaseinfo/factsheets.php.
3. Nalbert, T., Czopowicz, M., Szalus-Jordanow, O., Witkowski, M., Witkowski, L., Sloniewska, D., Reczynska, D., Bagnicka, E., Kaba, J. (2019) "Impact of the subclinical small ruminant lentivirus infection of female goats on the litter size and the birth body weight of kids" **Preventive Veterinary Medicine** 165
4. Grego, E., Reina, R., Lanfredini, S., Tursi, M., Favole, A., Profiti, M., Lungu, M., Perona, G., Gay, L., Stella, M., DeMeneghi, D. (2018) "Viral load, tissue distribution and histopathological lesions in goats naturally and experimentally infected with the Small Ruminant Lentivirus Genotype E (subtype E1 Roccaverano strain)" **Research in Veterinary Science** 118, 107-114
5. Fevereiro, M., Barros, S. (2004) "Caracterização biológica e molecular de um lentivírus de ovino isolado em Portugal" **Revista Portuguesa de Ciências Veterinárias** 99, 27-39
6. Henriques, A., Fevereiro, M., Prazeres, D., Monteiro, G. (2007) "Development of a candidate DNA vaccine against Maedi-Visna virus" **Veterinary Immunology and Immunopathology** 119, 222-232
7. The World Organisation for Animal Health - OIE (2019) [Online]. Available: <http://www.oie.int/>.
8. Cortez-Romero, C., Pellerin, J., Ali-Al-Ahmad, M., Chebloune, Y., Gallegos-Sánchez, J., Lamara, A., Pépin, M., Fieni, F. (2013) "The risk of small ruminant lentivirus transmission with reproductive biotechnologies: State-of-the-art review" **Theriogenology** 79, 1-9
9. Ali-Al-Ahmad, Z., Dubreil, L., Chatagnon, G., Khayli, Z., Theret, M., Martignat, L., Chebloune, Y., Fieni, F. (2012) "Goat uterine epithelial cells are susceptible to infection with caprine arthritis encephalitis virus in vivo" **Veterinary Research** 43, [Online]. Available: <https://doi.org/10.1186/1297-9716-43-5>
10. Hasegawa, M., Lara, M., Lobos, E., Gaeta, N., Hayashi, M., Shirayama, L., Castro, R., Gregory, L. (2017) "An experimental study on the vertical transmission of caprine arthritis-encephalitis virus from naturally infected females to their offspring" **Small Ruminant Research** 149, 23-27
11. Akkoc, A., Kocaturk, M., Demirer, A., Senturk, S. (2011) "Maedi-Visna virus infection in a Merino lamb with nervous signs," **Turkish Journal of Veterinary and Animal Sciences** 35, 467-470

12. Ferrer, L., Jalón, J., Heras, M. (2002) **Atlas de Patología Ovina**, Servet, 190-200
13. Harwood, D., Mueller, K. (2018) **Goat Medicine and Surgery**, CRC Press, 176-180
14. Barquero, N., Domenech, A., Arjona, A., Fernández-Garayzabal, J., Ruiz-Santa-Quiteria, J. (2013) "Comparison of two PCR and one ELISA techniques for the detection of small ruminant lentiviruses (SRLVs) in milk of sheep and goats" **Research in Veterinary Science** 94, 817-819
15. The World Organisation for Animal Health - OIE (2018) "capitulo 3.7.2. Caprine arthritis-encephalitis & Maedi-Visna" **OIE Terrestrial Manual**, 1420-1429
16. Venturino, E., Collino, S., Ferreri, L., Bertolotti, L., Rosati, S., Giacobini, M. (2019) "An effective management strategy for the control of two lentiviruses in goat breedings" **Journal of Theoretical Biology** 469, 96-106
17. Premium Sheep and Goat Health Schemes -Manager (2018) "MV/CAE Accreditation Rules and Conditions" **Premium Sheep and Goat Health Schemes** [Online]. Available: https://www.sruc.ac.uk/download/downloads/id/3086/mvcae_rules_and_conditions.pdf
18. Konishi, M., Nagura, Y., Takei, N., Fujita, M., Hayashi, K., Tsukioka, M., Yamamoto, T., Kameyama, K., Sentsui, H., Murakami, K. (2011) "Combined eradication strategy for CAE in a dairy goat farm in Japan" **Small Ruminant Research** 99, 65-71
19. Sanjosé, L., Pinczowski, P., Crespo, H., Pérez, M., Glaria, I., Gimeno, M., Andrés, D., Amorena, B., Luján, L., Reina, R. (2015) "Diagnosing infection with small ruminant lentiviruses of genotypes A and B by combining synthetic peptides in ELISA" **The Veterinary Journal** 204, 88-93
20. Kaba, J., Czopowicz, M., Ganter, M., Nowicki, M., Witkowski, L., Nowicka, D., Szalus-Jordanow, O. (2013) "Risk factors associated with seropositivity to small ruminant lentiviruses in goat herds" **Research in Veterinary Science** 94, 225-227
21. Duncanson, G. (2012) **Veterinary Treatment of sheep and Goats**, Elsevier, 210-211
22. Matthews, J. (2016) "Caprine arthritis encephalitis," **Diseases of the Goat 4^a edição**, Wiley-Blackwell, 98-102
23. Broughton-Neiswanger, L., White, S., Knowles, D., Mousel, M., Lewis, G., Herndon, D., Herrmann-Hoesing, L. (2010) "Non-maternal transmission is the major mode of ovine lentivirus transmission in a ewe flock: A molecular epidemiology study" **Infection, Genetics and Evolution** 10, 998-1007
24. Górecka-Bruzda, A., Reczynska, D., Jastrzebska, E., Barłowska, K., Bagnicka, E. (2019) "Behavioral and physiological measures in dairy goats with and without small ruminant lentivirus infection" **Journal of Veterinary Behavior** 31, 67-73
25. Larruskain, A., Jugo, B. (2013) "Retroviral Infections in Sheep and Goats: Small Ruminant Lentiviruses and Host Interaction" **Viruses** 5, 2043-2061